

## 植物异柠檬酸裂解酶(ICL)活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYHF6-M48	异柠檬酸裂解酶(ICL)活性	48T	微量法
PYHF6-M96	检测试剂盒	96T	

### 一、测定意义：

异柠檬酸裂解酶（ICL）是乙醛酸循环的起始关键酶，乙醛酸循环对植物的生长发育起着重要的作用。

### 二、测定原理：

ICL 催化异柠檬酸降解为乙醛酸和琥珀酸，乙醛酸和 NADH 在 LDH 的作用下生成乙醇和 NAD，NADH 在 340nm 下有特征吸收峰，测定 340nm 吸光度的减少速率可反应 ICL 活性。

### 三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 7.5mL×1 瓶	液体 15mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃保存
试剂三	液体 180μL×1 支	液体 180μL×2 支	2-8℃保存
<b>工作液的配制：</b> 将试剂二和试剂三转移至试剂一中，充分混合溶解，用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。			
试剂四	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
<b>试剂四的配制：</b> 使用前每瓶粉剂中加入 2mL 蒸馏水，充分混合溶解，用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。			

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液）处理样品，室温研磨至匀浆，4℃，10000 g 离心 10 min，取上清即为粗酶液，置于冰上待测。

#### 测定步骤

1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零；

2、操作表(在 96 孔 UV 板中加入以下试剂)：

试剂名称	测定管
上清液（μL）	10
工作液（μL）	150
试剂四（μL）	40
混匀后立即记录 340nm 处初始吸光值 A1 和 2min 后的吸光值 A2，计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。	

### 五、异柠檬酸裂解酶(ICL)活性测定：

1、按样本蛋白浓度计算

**单位定义：**每 mg 组织蛋白中每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

**计算公式：** $ICL \text{ (nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T = 2679 \times \Delta A \div Cpr$

2、按样本质量计算

**单位定义：**每克组织每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

**计算公式：** $ICL \text{ (nmol/min/g)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 2679 \times \Delta A \div W$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， $2 \times 10^{-4}$  L； $\epsilon$ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3$  L / mol / cm；d：96 孔 UV 板光径，0.6cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.01 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，2 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

### 六、注意事项：

为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中

问题请您及时与工作人员联系。

**【厂家信息】**

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

**【售后微信】****【说明书核准及修改日期】**

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日